

# **Studien zur Physiologie der Schilddrüse.**

## **III. Mitteilung.**

### **Ergänzungen zur Jodbestimmungsmethode.**

Von

**F. Blum und R. Grützner.**

(Aus dem biologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Der Redaktion zugegangen am 21. April 1914.)

Die Anwendung unserer in den ersten beiden Mitteilungen<sup>1)</sup> niedergelegten Jodbestimmungsmethode für andere als die dort beschriebenen Zwecke hat uns eine Reihe von Erfahrungen vornehmlich bei der Veraschung sammeln lassen, über die im Interesse einer universellen Verwendungsmöglichkeit berichtet sei, ehe wir auf unsere Resultate in der Schilddrüsenfrage im einzelnen eingehen.

Die Methodik hat sich in den Fällen, für die sie im besonderen ausgearbeitet worden ist, genügend handlich und hervorragend sicher erwiesen, was durch neue Belege (s. unten) bestätigt werden soll. Um aber ihr Anwendungsgebiet recht weit zu gestalten und um auch andern als den bei der ersten Arbeit ins Auge gefaßten Zielen die Methode dienlich zu machen,

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 85, S. 429 ff. (1913).

Nach Niederschrift dieser Mitteilung erschien eine Arbeit von G. Fendler und W. Stüber (Diese Zeitschrift, Bd. 89, S. 123 [1914]) die in sehr vielen Punkten mit unserer Kritik der Jodbestimmungsmethoden in der ersten Mitteilung übereinstimmt. Diese Übereinstimmung ist uns deshalb besonders wichtig und willkommen, weil die Autoren bei der Prüfung der Jodmethoden, von anderen Aufgaben ausgehend, unsere Arbeit offenbar nicht gekannt haben und doch im wesentlichen zu den gleichen Anschauungen gekommen sind. Die einzige nennenswerte Verschiedenheit der beiderseitigen Erfahrungen liegt in der Zerstörung der organischen Substanz durch bloßes Kalzinieren des organischen Materials: in unseren Fällen (eiweißhaltige Materialien) genügte dies Verfahren nicht; bei Veraschung des verseiften Öles mag es aber wohl ausreichend sein. Jedenfalls bietet die vollständige Zerstörung die größere Sicherheit.

haben wir Einzelbedingungen herausgearbeitet, die zum Teil notwendige Erweiterungen, zum Teil nützliche Beschränkungen für die Handhabung bedeuten.

Die Verarbeitung der Schmelze, wie wir sie unter dem Titel «Oxydation und Titration» mitgeteilt haben, bedarf keiner neuerlichen Besprechung; sie muß in allen Fällen — nicht nur bei der besonders berücksichtigten Verarbeitung von Blut und Organen — unverändert bestehen bleiben. Für die Veraschung aber, will man sie für die Allgemeinheit der Jodbestimmungen in organischen Medien anwenden, mögen folgende spezielle Vorschriften gelten:

#### Analyse von jodreichem organischem Material.

Die für Blut und Organe empfohlene Veraschung mit  $\text{BaO}_2$  wurde vor allem deshalb gewählt, weil bei den beträchtlichen Mengen zu zerstörender organischer Substanz der mit  $\text{CO}_2$  nachher leicht entfernbare Baryt in der Lösung der Schmelze keine Salzvermehrung bedingt, im Gegensatz zu  $\text{Na}_2\text{O}_2$  oder  $\text{NaOH}$  und  $\text{KNO}_3$ . Wenn nun auch die  $\text{BaO}_2$ -Veraschung bei vorsichtigem Arbeiten mit ganz gutem Erfolg auf die Analyse von jodreichen an organischer Substanz verhältnismäßig armen Substanzen (z. B. Jodeiweißkörpern), für die sie ja eigentlich nicht bestimmt ist, übertragen werden kann, so ist sie doch hier unzweckmäßig, weil es entsprechend der eben angeführten Überlegung bei den kleinen Mengen zu verbrennender Substanz garnicht darauf ankommt, eine so salzarme Schmelze zu erhalten. Die wenigen Gramm Alkalisalze, die bei Veraschung von z. B. 0,1—0,5 g Jodeiweiß verwendet werden, besagen garnichts für den Verlauf der weiteren Maßnahmen; ganz im Gegensatz zu den Mengen, die bei Verbrennung von z. B. 100 ccm Blut mit Sodasalpetergemisch in Lösung gehen würden. Zudem ist der Jodgehalt auch ein unvergleichlich höherer.

Wir haben demgemäß in diesen Fällen (wenig organische Substanz) uns Veraschungsmitteln zugewandt, die eine leicht und vollständig lösliche Schmelze liefern und das Zerkleinern des Schmelzrückstandes, das Auskochen, Abfiltrieren und Auswaschen des  $\text{BaCO}_3$ - und  $\text{BaSO}_4$ -Niederschlages zu vermeiden

gestatten. Es ist dies Natrium-superoxyd oder die altbewährte Sodasalpetermischung. Superoxyd bezw. Nitrit und Nitrat werden bei dem weiteren Gang der Verarbeitung unschädlich gemacht oder sie bleiben überhaupt in unschädlichen Konzentrationen. Bei wenig organischer Substanz, gleichgültig ob viel oder wenig Jod darin enthalten ist, auch z. B. bei Schilddrüsen, empfiehlt es sich also, um Verluste von Jod beim Mineralisieren zu vermeiden, nach dem Beispiel der folgenden Veraschungen vorzugehen:

### I. $\text{Na}_2\text{O}_2$ -Veraschung.

Die gewogene organische Jodsubstanz (0,1—0,5 g) wird im Tiegel mit 3—5 g zerstoßenem NaOH (e Natrio) vermennt, mit einem Tropfen Wasser angefeuchtet und erhitzt, bis eine gleichmäßige Mischung entstanden ist. Nach Zusatz von 2—5 g  $\text{Na}_2\text{O}_2$  (feinverteilt) wird wieder von neuem bei aufgelegtem Deckel erhitzt, bis das Schäumen beendet ist. Die meist durch Verunreinigung vom Eisentiegel rotbraun, aber nicht mehr schwarz gefärbte Schmelze wird nach dem Erkalten in Wasser gelöst, verdünnt, filtriert und Filtrat nebst Waschwasser (mindestens 3 mal heißes Wasser) der weiteren Behandlung, Oxydation mit Permanganat usw., unterworfen.

#### Beispiele zu I.

Jodeiweiß. (Jodgehalt nach Carius 7,2%. Spuren AgCl durch verdünntes Ammoniak entfernt.)

Substanz- menge g	NaOH g	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ Kalzin. g	$\text{K}_2\text{CO}_3$ g	$\text{Na}_2\text{O}_2$ g	Bemerkungen über die Verbrennung	Ge- funden % Jod
0,2608	5	—	—	2	ohne Kohlezusatz	7,37
0,2198	—	5	2	3	zum Schluß Kohlezusatz	7,5
0,2260	2	—	—	2	Gemenge angefeuchtet. $\text{Na}_2\text{O}_2$ nach dem Trocknen zugesetzt. Kohle nach Ab- kühlen zugegeben und noch- mals geglüht.	7,1
0,3452	—	6 g kryst.	1	3	ohne Kohlezusatz	7,1

## II. $\text{KNO}_3$ -Veraschung.

Inniges Vermengen der Substanz mit dem niedrigschmelzenden Gemisch von Soda, Pottasche und Salpeter, nach Hunter<sup>1)</sup> (ca. 5—10 g) oder wie bei I mit Natriumhydroxyd und Salpeter (ca. 2 g). Es wird allmählich erhitzt und kurze Zeit im Schmelzen erhalten. Die Verbrennung ist rasch vollendet; zu starkes Glühen muß vermieden werden. Die erkaltete Schmelze wird gelöst und nach dem Filtrieren nach Vorschrift weiter behandelt.

Beispiele zu II.  
Jodeiweiß (wie zu I.)

Substanzmenge g	NaOH g	Hunter-Gemisch g	$\text{KNO}_3$ g	Bemerkungen	Ge-funden % Jod
0,6232	—	6	—	trocken gemischt u. geschmolzen	7,1
0,2824	5	—	3	beides trocken mit Substanz gemischt	7,5
Jodeiweiß (nach Carius 11,5% J mit Spur Cl-Gehalt)					
0,1482	—	Sodasalpeter-gemisch		trocken mit der Substanz gemengt	11,1
Jodeiweiß (nach Carius 7,56% J).					
0,1338	—	Sodasalpeter-gemisch		trocken mit der Substanz gemengt	7,3

## III. $\text{BaO}_2$ -Veraschung.

Natürlich ist auch eine Veraschung mit Baryumsuperoxyd durchführbar. Sie erfolgt zweckmäßig nach folgender Arbeitsweise: Die Substanz wird mit 2—3 g zerkleinertem NaOH gemengt und unter Zusatz von nicht mehr als 3 g  $\text{BaO}_2$  in kleinen Portionen zum Schmelzen gebracht. Dann wird das Erhitzen unterbrochen. Das überschüssige  $\text{BaO}_2$  kann durch Zusatz von Kohle zu dem einigermaßen abgekühlten Gemenge und nochmaliges kurzes Glühen zersetzt werden. Diese Manipulation hat sich uns aber in besonderen

<sup>1)</sup> A. Hunter, Journ. of Biol. Chem., Bd. 7, S. 324 (1910).

Versuchen hier als nicht unbedingt notwendig erwiesen. Der erkaltete Tiegelinhalt wird mit warmem Wasser durchweicht, in ein Becherglas unter Aufkochen übergeführt, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  das Baryum gefällt, filtriert und mit heißem natriumsulfathaltigem Wasser nachgewaschen. Mit dem Filtrat verfähre man nach der allgemeinen Vorschrift weiter.

## Beispiele zu III.

Jodeiweiß (wie zu I.)

Substanz- menge g	NaOH g	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ Kalzin. g	$\text{K}_2\text{CO}_3$ Kalzin. g	$\text{BaO}_2$ g	Bemerkungen	Ge- funden % Jod
0,3374	2	—	—	3	Angefeuchtet, getrocknet, dann $\text{BaO}_2$ . Nach dem Erkalten mit Kohle wieder erhitzt.	7,1
0,3232	2	1,5	1,5	3	Angefeuchtet, getrocknet, dann $\text{BaO}_2$ . Ohne Kohle.	7,4
0,2427	5	—	—	2	Trocken verschmolzen. $\text{BaO}_2$ mit Kohle zerstört.	7,0

Wir halten es nicht für unnötig, darauf hinzuweisen, daß bei der Analyse von Schilddrüsensäften und mit Alkali zerkochten Schilddrüsen auch unsere früher beschriebene Arbeitsweise zuverlässige Resultate liefert, wofern nur ein  $\text{BaO}_2$ -Überschuß, zu langes Glühen und zu heftige Verbrennung beim Kohlezusatz (Erkaltenlassen und neuerliches Erhitzen!) vermieden werden und für genügend Alkali gesorgt wird. Diese Punkte, welche wir für sehr wichtig erachten, in unserer ersten Mitteilung aber nur gestreift haben, seien mit aller Deutlichkeit hervorgehoben.

Als Grundsätze bei der Veraschung haben demnach allgemein die folgenden zu gelten:

1. Innige Durchmischung der Substanz mit Alkali in einer Menge, die bei trockenen Substanzen ein völliges Zusammensintern, d. h. Einbettung der Substanz in Alkali ermöglicht.

2. Vorsichtiger Zusatz des Oxydationsmittels. Langsames Steigern der Temperatur und kurzes Glühen des bedeckten Tiegels.

3. Sorgfältige Vermeidung lokaler Überhitzung z. B. beim Kohlezusatz oder bei Verwendung eines großen Überschusses des Oxydationsmittels.

Als Beispiele zu diesen Sätzen seien folgende gegeben. ad 1. 0,3413 g Jodeiweiß mit 5 g Soda (kalz.) 2 g Pottasche (kalz). 5 g  $\text{BaO}_2$  trocken gemischt und erhitzt, verbrennt unter Glimmerscheinung und ergibt nur 1,0% Jod statt 7,2. Die Ursache der Verluste ist darin zu erblicken, daß die trockene Durchmischung nicht genügt, um das bei der heftigen Verbrennung freiwerdende Jod zurück zu halten, zumal durch die Gegenwart von viel  $\text{BaO}_2$  eine richtige Schmelze nicht zustande kommt. Etwas besser sind die Resultate bei Verwendung von etwas  $\text{NaOH}$  in Lösung oder beim Durchfeuchten des Gemisches. Gefunden 4—7% Jod. Sicher sind sie bei Anwendung von  $\text{BaO}_2$  für diese Fälle nur mit festem  $\text{NaOH}$  in reichlicher Menge.

Ad 2 verweisen wir auf die allbekannte Flüchtigkeit von Alkalijodid bei längerem Glühen.

Ad 3. 0,2632 g Jodeiweiß ergab trotz Verschmelzens mit 5 g  $\text{NaOH}$  nur 4,9% Jod, weil die zu große Menge von 5 g  $\text{BaO}_2$  angewendet und nach dem lebhaften Verglimmen zur Zerstörung desselben in die heiße Masse Kohle eingetragen worden war, die ebenfalls schnell verbrannte.

Die genauere Nachforschung nach Fehlerquellen bei der  $\text{BaO}_2$ -Methode führte uns auch dahin, zu prüfen, ob wirklich das Jod in den Fällen, wo Verluste auftreten, sich verflüchtigt hatte oder im Filtrerrückstand ungelöst geblieben war, bezw. wegen ungenügender Zerstörung der organischen Substanz dem Nachweis sich entzogen hatte. Bei Untersuchung zahlreicher Schmelzrückstände die teils mit Säure behandelt, teils auch nochmals mit Salpeter geschmolzen wurden, ergab sich kein Anhalt dafür, daß die beträchtlichen Verluste in obigen Beispielen etwa auf mangelhafte Zersetzung oder auf mangelhafte Herauslösung zurückzuführen seien. In den meisten

unserer späteren Analysen haben wir trotzdem — um eine Sicherheit mehr zu besitzen — nach beendiger  $\text{BaO}_2$ -Verbrennung eine nochmalige Erhitzung mit etwas  $\text{KNO}_3$  oder  $\text{Na}_2\text{O}_2$  angeschlossen und wir raten diese Vorsichtsmaßregel allgemein an.

### Analyse von Blut und Organen.

Von diesen Gesichtspunkten aus wurden die ersten Vorschriften für Blut und Organe einer weitgehenden Nachprüfung unterzogen. Es handelt sich dabei um die Fälle: viel organische Substanz und wenig Jod, und um den wohl kaum vorkommenden Fall, viel organische Substanz und viel Jod. Denn wenn dieser letztere Fall eintritt, wird wohl niemand sich die Mühe nehmen, große Mengen umständlich zu verarbeiten, wo mit kleinen bequem richtige Resultate zu erreichen sind. Die Ergebnisse mit dem Verfahren bestätigten die günstigen Befunde, die in der früheren Arbeit mitgeteilt wurden, ohne jegliche Abänderung der Vorschriften.

An Proben mit verhältnismäßig viel organischer Substanz und wenig Jod liegen folgende Beispiele vor: Anwendung fand eine schwachalkalische Lösung eines Jodeiweißkörpers vom Jodgehalt 7,3% (Mittel), die in 1 ccm nach der Berechnung 1,28 mg Jod, nach der Analyse 1,25 mg Jod enthielt (1), und eine zehnfach verdünnte Lösung (2). Zur Veraschung diente Blut. Bearbeitung nach der früheren Vorschrift.

Angewendet Blut ccm	NaOH 30% ccm	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ g	$\text{BaO}_2$ g	Jodeiweiß- lösung ccm	Berechnet Jod mg	Gefunden Jod mg
a) 20	1	1	12	5 (2)	0,63	0,69
b) 20	1	1	12	10 (2)	1,26	1,24
c) 100	5	5	60	2 (2)	0,25	0,27
d) 100	5	5	60	1 (2)	0,13	0,08
e) *100	5	5	60	10 (2)	1,26	0,92

\* Die Verbrennung hatte etwas lebhaft begonnen.

Weniger günstig stellte sich anfänglich das Ergebnis bei dem zweiten Fall, viel organische Substanz mit verhältnis-

mäßig hohem Jodgehalt, z. B. bei Anwendung der Mengenverhältnisse wie in a und b, nur mit 10 ccm Lösung 1 = 12,6 mg Jod. Hier ergab sich in einigen Versuchen ein Verlust, der ziemlich regelmäßig 3 mg betrug. Dieser Fehler konnte aber einfach durch Vermehrung des Ätzalkalis oder auch zweckmäßig durch Zusatz von  $\text{Na}_2\text{O}_2$  eliminiert werden, wobei dann entsprechend weniger  $\text{BaO}_2$  nötig wurde.

## Beispiele.

Angewendet Blut ccm	Jodeiweiß- lösung (1) ccm	NaOH ccm	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ g	$\text{Na}_2\text{O}_2$ g	$\text{BaO}_2$ g	Berechnet mg	Gefunden mg
20	10	—	2	5	5	12,6	12,4
20	10	20	2	—	5	12,6	12,1
20	10	25	—	—	5	12,6	12,3
20	10	5	2	2	5	12,6	12,6
100	10	10	5	—	40	12,6	11,8
50	10	10	—	5	15	12,6	12,5
100	10	15	—	10	30	12,6	12,6
50	10	10	—	5	10	12,6	11,9
100	20	15	—	10	30	25,2	24,6

Also auch hier bei den relativ großen Jodmengen Verluste, die Bruchteile von Milligrammen nicht überschreiten.

Eine solche Methode — speziell mit den hier gegebenen besonderen Vorschriften — erscheint tatsächlich universell brauchbar.